

白腐真菌的广谱生物降解性研究进展*

张伟¹ 冯俊¹ 杨超¹ 王淑芳² 宋存江^{1,2#}

(1. 南开大学分子微生物与技术教育部重点实验室, 天津 300071;

2. 南开大学生物活性材料教育部重点实验室, 天津 300071)

摘要 白腐真菌由于能够降解木质素而在地球的碳循环中发挥着不可或缺的作用。由胞外的过氧化物酶类和其他次级代谢产物组成的木质素降解系统除了能够降解木质素外,对众多的异生物质也具有广谱的生物降解性,赋予了白腐真菌巨大的环境工业应用潜力。对白腐真菌的木质素降解系统及其广谱的生物降解性进行了介绍与展望。

关键词 白腐真菌 木质素降解系统 广谱降解性

Broad-spectrum degradation capability of the white rot fungus ZHANG Wei¹, FENG Jun¹, YANG Chao¹, WANG Shufang², SONG Cunjiang^{1,2}. (1. The Key Laboratory of Molecular Microbiology and Technology, Ministry of Education, Nankai University, Tianjin 300071; 2. The Key Laboratory of Bioactive Materials, Ministry of Education, Nankai University, Tianjin 300071)

Abstract: The white rot fungus (WRF) possesses powerful abilities for decomposition of the extensive plant material, lignocellulose, which make them indispensable in the Earth's carbon cycle. WRF are capable of mineralizing a wide variety of toxic xenobiotics due to the non-specific nature of their extracellular ligninolytic system comprising mainly of oxidoreductive metalloenzymes and secondary metabolites, and thus have potential applications in industry. This review mainly focus on their extracellular ligninolytic system and wide spectrum of biodegradation, as well as the potential future research area.

Keywords: white rot fungus; ligninolytic system; broad-spectrum degradation

白腐真菌是一类能够降解木质素真菌的通称。木质素被白腐真菌降解后,产生漂白效果,白腐真菌的名字即来源于此^[1]。从系统分类学的角度讲,白腐真菌属担子菌,种类多,主要分布在革盖菌属(*Coriolus*)、卧孔菌属(*Poria*)、侧耳属(*Pleurotus*)、原毛平革菌属(*Phanerochaete*)、层孔菌属(*Fomes*)和多孔菌属(*Polyporus*)等^[2]。黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*) Burdsal 是白腐真菌的模式菌种。它除了能够降解自然底物木质素外,还能降解多种异生型化合物,包括芳香族化合物、多环芳烃、氯代芳烃和非芳香族的氯化物以及天然的生物高聚物^{[3]438,439}。由于降解底物范围广泛,白腐真菌在工业应用中具有极大的潜力,如有毒液体处理、被污染土壤的修复、造纸工业废水处理和生物漂白过程等^{[4]757,758}。

第1个完成全基因组测序的白腐真菌是模式菌种——*Phanerochaete chrysosporium* RP-78,约30 Mb,含有10条染色体,GC个数所占比例为57%,

编码11 777种蛋白,其中有72.1%与Genebank中的蛋白有很高的同源性,有6.4%的同源性小于60%但却拥有保守的蛋白质结构域。基因间的平均距离为1 339 bp。基因组中含有大量的反转录转座子,其中一些能够影响与木质素降解有关基因的表达^[5]。

白腐真菌能够分泌一系列氧化酶和过氧化物酶来产生高活性和非特异性的自由基,这些自由基产生之后经历了复杂的自发切割从而催化木质素的解聚反应。在*Phanerochaete chrysosporium*的基因组中,确定了10个负责编码木质素过氧化物酶(LiP)的基因和5个负责编码Mn过氧化物酶(MnP)的基因。LiP和MnP的胞外催化活性需要H₂O₂,H₂O₂的一个可能来源就是铜自由基氧化酶(GLOX)。除了基因GLOX外,从全基因组序列中还能推测出6个可能具有编码GLOX能力的序列(*cro1~cro6*)。全基因组中并未发现传统的基因漆酶(Lac)序列,这表明*Phanerochaete chrysosporium*并不能编码

第一作者:张伟,男,1987年生,硕士研究生,主要从事环境微生物方面研究。*通讯作者。

*国家“863计划”目标探索类项目(No. 2007AA06Z323);国家自然科学基金资助项目(No. 31070039、No. 51073081);天津市科技项目(No. 09JCZDJC18400、No. 09ZCKFSH00800)。

Lac,但却发现了由4个多铜离子氧化酶基因构成的25 kb的基因簇,负责编码一种类似于亚铁氧化酶的蛋白^[6]。

许多报告对白腐真菌的木质素降解酶系及其分子生物学进行了探究与总结^{[8]138-142, [4]757-764, [7]}。笔者在简要介绍白腐真菌木质素降解系统的基础上,对能被降解的众多化学物质种类与结构进行了概述,以期对有机污染物的降解研究提供帮助。

1 白腐真菌的木质素降解系统

木质素在地球的碳循环中处于核心地位。它的异性结构赋予了植物结构的严谨性,保护纤维素和半纤维素免受降解。白腐真菌是能够解聚、降解并矿化细胞壁所有成分的微生物,包括纤维素、半纤维素和更加难降解的木质素^{[8]77}。白腐真菌的菌丝能够沿着细胞腔蔓延,在细胞壁下分解出一条沟槽,使它可从细胞腔到复合胞间层逐渐降解纤维素、半纤维素和木质素^[9]。白腐真菌并不能以木质素作为单一碳源,木质素降解过程中首先利用植物体中小分子碳源和半纤维素,以提供菌丝碳源和能源;之后,半纤维素和木质素被降解成小分子酸类或脂类,可被白腐真菌直接利用;最后,纤维素、半纤维素和木质素被同时降解^[10]。

白腐真菌的木质素降解系统主要由一些胞外的血红素过氧化酶(H_2O_2 产生酶系和木质素氧化酶系等^[11])组成,这些酶一般是在营养限制条件下产生的次级代谢产物,能够产生高活性的自由基来发挥作用。

1.1 H_2O_2 产生酶系

H_2O_2 产生酶系能够以小分子有机物为底物,将

分子氧还原为 H_2O_2 ,主要包括葡萄糖氧化酶和乙二醛氧化酶。产生的 H_2O_2 能够触发一些木质素氧化酶的氧化,从而启动其催化循环。

1.2 木质素氧化酶系

木质素氧化酶系分为2类,一类需要 H_2O_2 触发其催化反应,包括LiP和MnP;另一类包括Lac,不需要 H_2O_2 。

LiP能够催化的反应包括木质素及其结构类似物丙基侧链 $C\alpha$ 与 $C\beta$ 之间的断裂、苄亚甲基基团的羟基化、将苄醇氧化为相应的酮类、苯酚的氧化以及非酚类化合物芳香环的断裂等^{[8]77-79}。LiP催化各种非酚类木质素及木质素模式化合物的降解机制是一种自由基化学。 H_2O_2 使LiP发生氧化,生成酶的氧化中间体,使敏感的芳香核发生单电子的氧化生成芳基阳离子自由基,继而发生各种反应,使芳香类物质得到降解^[12]。MnP以一种间接的方式来氧化木质素,底物主要是酚类模式化合物和一些其他非酚类模式化合物。过氧化物 H_2O_2 等触发MnP将 Mn^{2+} 氧化为 Mn^{3+} , Mn^{3+} 和草酸等有机物形成螯合物,将酚类物质氧化为相对应的自由基; Mn^{3+} 螯合剂也可以将一些共氧化物氧化为相对应的自由基去进攻非酚类芳香族物质形成自由基。所形成的自由基再发生一系列的链式反应,最终使酚类及非酚类的芳香族物质降解^[13]。

有些白腐真菌(如朱红秘孔菌(*Pycnoporus cinnabarinus*))仅产生Lac来降解木质素^[14]。典型的Lac每个分子含有4个Cu原子,能够催化多种有机(包括单酚、二酚或者多酚以及甲氧酚和氨基酚等^[15])或者非有机底物的单电子氧化过程。在白腐真菌中,Lac是以同工酶的形式被分泌的^[16,17]。

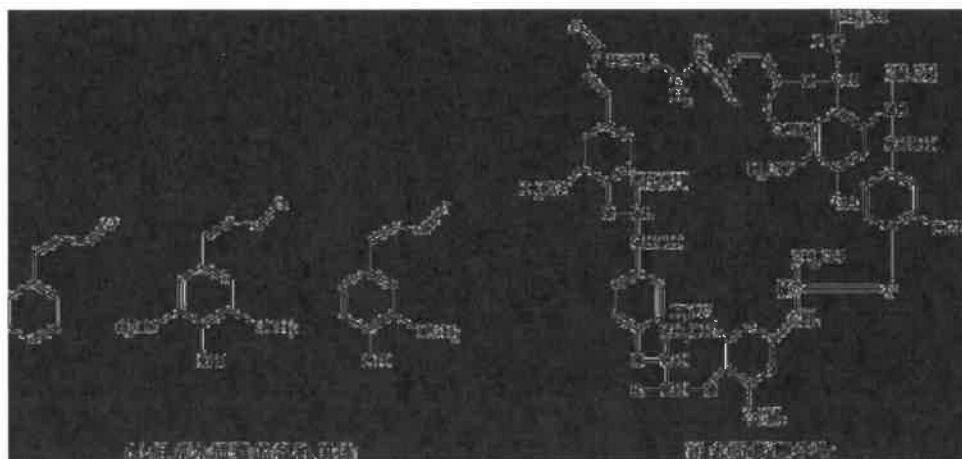


图1 组成木质素的各种单体和木质素复合物的结构

Fig. 1 The structures of monomers that composition the lignin and lignin complex

2 白腐真菌广谱的生物降解性

组成木质素的各种单体和木质素复合物的结构见图 1^[18]。由图 1 可知,木质素是由基本的结构单位——类苯丙烷构成的复杂的三维杂聚物,通过不同的碳碳键和醚键连接在一起,并不存在可以水解的键,结构非常稳定。木质素结构的异质性和不规则性,决定了对其生物降解的复杂性和特殊性。白腐真菌针对木质素而建立起来的降解系统,对底物的要求自然也不是专一的。以下对白腐真菌能够降解的化学物质进行介绍。

2.1 苯类物质

苯类物质主要包括苯、甲苯、乙苯和二甲苯等,合称 BTEX,其结构见图 2。BTEX 是石油和汽油中一类挥发性的单环芳香族化合物,是造成环境污染的主要化合物种类之一,由于原油在开采、储存、运输等过程中的泄漏而分布广泛。ARANDA 等^[19]利用 Fe^{3+} -EDTA 和 2,6-二甲氧基-1,4-苯醌诱导变色栓菌 (*Trametes versicolor*) 产生羟基自由基来氧化 BTEX,6 h 后,所有 BTEX 的平均降解率都达到了 71%。

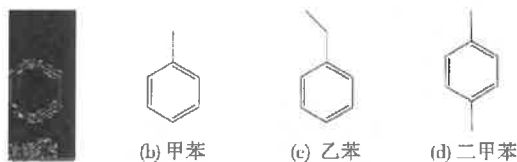


图 2 苯类物质的结构

Fig. 2 The structures of BTEX compounds

2.2 氯苯类化合物

氯苯类化合物广泛用作溶剂、去污剂等,其结构见图 3。YADAV 等^[20]1995 年第 1 次报道了 *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 对一氯代苯和二氯代苯的降解作用。其研究发现,在高氮培养基中, *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 能够有效降解氯苯类化合物,但各种物质的降解速率不同,从高到底依次是一氯代苯、间二氯苯、邻二氯苯、对二氯苯,且氯苯与甲苯的混合物也能够被降解。



图 3 氯苯类化合物的结构

Fig. 3 The structures of chlorobenzene compounds

2.3 杀虫剂

2.3.1 烷基卤化物

艾氏剂、氯丹、狄氏剂、七氯、灭蚊灵和林丹是一

类高毒性的烷基卤化物,是有效的杀虫剂,应用广泛,其结构见图 4。它能在环境中持久存在,并且产生生物累积,对高等动物造成毒性。虽然其产量和用量被人为控制不断降低,但在水体、土壤及各种沉积物中的积累已经对环境造成了危害。KENNEDY 等^[21]通过同位素标记的方法研究 *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767 对 6 种物质的降解,发现在液体培养基中 30 d 或者土壤玉米浆固体培养基中 60 d,氯丹和林丹发生了 9.4%~23.4% 的降解;艾氏剂、七氯、灭蚊灵和狄氏剂虽然矿化作用不明显,但也发生了明显的生物转化。

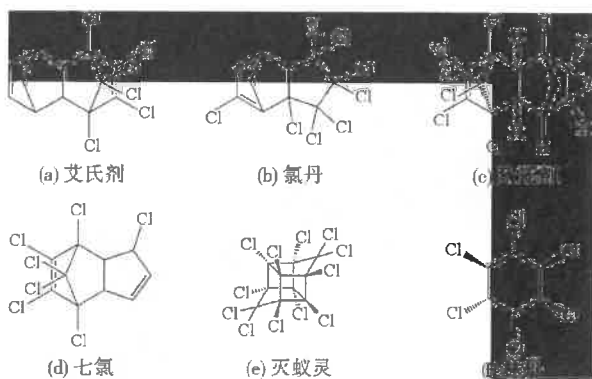


图 4 烷基卤化物的结构

Fig. 4 The structures of alkyl halide insecticides

2.3.2 滴滴涕 (DDT) 及其代谢产物

DDT 是一种有机氯农药,中文名为 2,2-双(对氯苯基)-1,1,1-三氯乙烷,分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{Cl}_5$ 。DDT 曾是一种应用广泛的有机磷杀虫剂,具有毒性和高残留性。从 1983 年开始,我国已禁止使用,但大量的 DDT 已残留在土壤中。DDT 的代谢产物 DDD、DDE 也是难降解的化合物^[22]。ZHAO 等^[23]研究了白腐真菌的 Lac 在不同土壤含氧量和 pH 条件下对 DDT 的降解。其结果表明,DDT 的降解率与土壤中氧气含量正相关;在有氧环境下 DDT 的降解率达到 68.6%,而氮气环境下只有 40.5%;且在在有氧环境下,p,p'-DDE、o,p'-DDT、p,p'-DDD、p,p'-DDT 4 种 DDT 代谢产物的降解率分别达到 1.9%、74.1%、68.9% 和 76.5%。DDT 及其代谢产物的结构见图 5。

2.4 除草剂

2.4.1 2,4,5-三氯苯氧基乙酸 (2,4,5-T)

2,4,5-T 是一种广泛应用的除草剂,其结构见图 6(a),在土壤中被微生物降解的速率较慢。YADAV 等^[24]将 2,4,5-T 和 2,4-二氯苯氧乙酸混合物利用 *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 进行降解,2,4,5-T 的矿化率达到 36.8%。

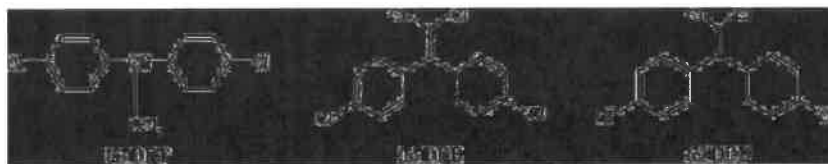


图5 DDT及其代谢产物的结构
Fig. 5 The structures of DDT and its metabolites

2.4.2 莠去津

莠去津作为一种除草剂已被应用了50年以上,其结构见图6(b)。BENDING等^[25]研究了9种白腐真菌对莠去津等除草剂的降解作用,结果表明,经过42 d的降解,采绒革盖菌(*Coriolus versicolor*)、簇生黄韧伞(*Hypholoma fasciculare*)和毛革盖菌(*Stereum hirsutum*)对莠去津的降解率超过86%。

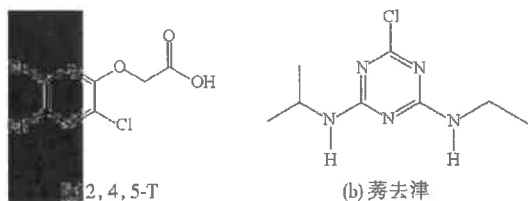


图6 白腐真菌能够降解的除草剂结构
Fig. 6 The structures of herbicides degradable by white rot fungus

2.5 氯酚类化合物

氯酚类化合物包括五氯苯酚(PCP)、单氯苯酚(CP)、二氯苯酚(DCP)和三氯苯酚(TCP)等,常见种类的结构见图7。氯酚类化合物被广泛用于杀虫剂、除草剂、染料、色素的工业生产及造纸工业等,由于难以降解在环境中持久存在。GAITAN等^[26]利用绒毛栓菌(*Trametes pubescens*) CBS696.94产生的Lac粗提物对2-CP、2,4-DCP、2,4,6-TCP和PCP的混合物进行降解研究,在50~60℃、pH 3.0~4.0条件下反应4 h,各种物质的降解率分别达到100.0%、99.0%、82.1%和41.1%。

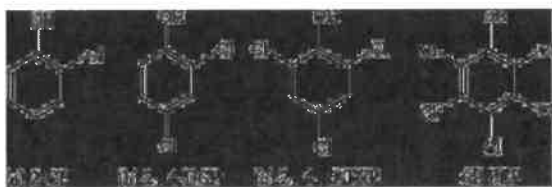


图7 氯酚类化合物的结构
Fig. 7 The structures of chlorophenol compounds

2.6 多环芳烃类(PAHs)化合物

PAHs是一类在生态系统中广泛分布而且能够致畸、致突变、致癌的有机化合物,常见种类的结构见图8。PAHs水溶性低,能够与土壤颗粒结合而不易被微生物降解,在环境中持久存在^[27]。ACE-

VEDO等^[28]利用*Anthracophyllum discolor*在Kirk培养基上研究PAHs混合物的降解。其结果表明,当菲、蒽、荧蒽、芘、苯并(α)芘以混合物的形式存在时,降解率要高于单一物质作为底物;土壤经过高压灭菌除去土著微生物时,得到较高的PAHs矿化率,菲、蒽、荧蒽、芘、苯并(α)芘的降解率分别达到62%、73%、54%、60%和75%,降解率与MnP的量密切相关。

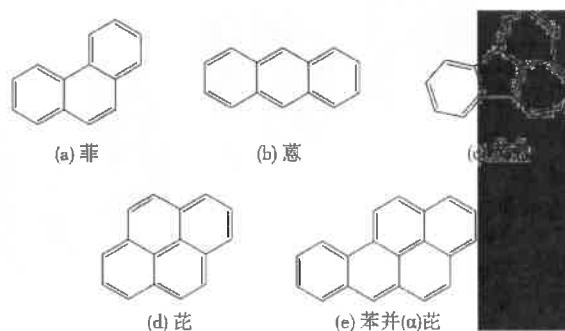


图8 PAHs化合物的结构
Fig. 8 The structures of polycyclic aromatic hydrocarbon

2.7 氯苯胺类物质

氯苯胺类是一类由除草剂经生物转化而来的氯代芳香胺类物质,被用作燃料、杀虫剂等。氯苯胺类物质尤其是4-氯苯胺和3,4-二氯苯胺(DCA,其结构见图9)在环境中大量积累,包括农业土壤、工业废水和污泥中都有这类物质的存在^[29]。



图9 3,4-二氯苯胺的结构
Fig. 9 The structure of 3,4-dichlorobenzene

1998年,SANDERMANN等^[30]利用*Phanerochaete chrysosporium* ATCC34541在37℃、供给氧气、限制氮源的条件下,使DCA发生了高度矿化。矿化与LiP的活性无关,因为在限氮的条件下LiP的活性很低,而限碳条件下虽然LiP活性很高,但DCA的矿化率却很低。在限碳、限氮、碳丰富和氮丰富的各种条件下,DCA在2 d内均消失。

2.8 联苯类化合物

多氯联苯(PCB)由 209 种同类物组成,是一类在工业中具有广泛应用的化合物,其结构见图 10(a)。PCB 的脂溶性和低生物转化率使其在食物链中积累^[31]。其代谢物——羟基 PCB(HO-PCB)能够与激素受体结合从而扰乱内分泌,造成严重的健康和环境问题。FUJIIHRO 等^[32]将 *Trametes versicolor* UAMH8272 所产生的 2 类 Lac 在米曲霉(*Aspergillus oryzae*)中进行表达。然后,利用这 2 类 Lac 对 6 种 HO-PCB(4-羟基-3,5-二氯联苯、4-羟基-2',3,5'-三氯联苯、4-羟基-2',3,5,5'-四氯联苯、4-羟基-2',3',4',5'-四氯联苯、4-羟基-2',3,3',4',5'-五氯联苯和 4-羟基-2',3,3',4',5,5'-六氯联苯)进行降解,结果表明,第 1 类 Lac 对 6 种 HO-PCB 的降解率都超过了 80%。研究还发现,氯原子越多,联苯类化合物对酶的敏感性就越低。

THOMAS 等^[33]利用 *Phanerochaete chrysosporium* 的悬浮培养物对放射性标记的联二苯(其结构见图 10(b))进行降解,在联二苯摩尔浓度为 0.26~8.80 $\mu\text{mol/L}$ 时,30 d 后发生显著矿化。

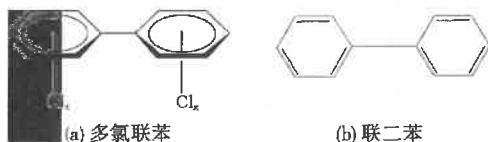


图 10 联苯类化合物的结构

Fig. 10 The structures of diphenyl compounds

2.9 硝基芳烃类化合物

2,4,6-三硝基甲苯(TNT)是一种黄色固体,主要在军事上被用作炸药,其结构见图 11。在生产地和储存地,TNT 能够对土壤和地下水造成严重污染,引起贫血、肝功能紊乱等疾病^[34]。

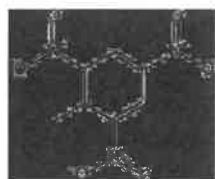


图 11 TNT 的结构

Fig. 11 The structure of 2,4,6-trinitrotoluene

KIM 等^[35]研究了乳白耙菌(*Irpex lacteus*)对不同浓度 TNT 的降解作用,结果表明,当 TNT 加入后,降解就立刻发生。随着 TNT 质量浓度的升高(25、50、100、200 mg/L),降解速率加快。12 h 后,TNT 被全部降解。此外,还比较了真菌全培养液、洗脱的菌丝体和培养液上清液对 TNT 降解能

力的差异。真菌全培养液能够将 TNT 全部降解,洗脱的菌丝体降解速度相对较慢,但最终也能将 TNT 全部降解,而培养液上清液对 TNT 无降解作用。这些结果表明,菌丝体和胞外酶类对 TNT 的降解都是必须的。降解过程中,LiP 的活性被 TNT 所诱导。

2.10 染料

全世界每年生产约 1 万种染料,应用于纺织、造纸、塑料、化妆品和食品等行业。部分染料对环境和人体有毒害作用,且对光、热和微生物降解不敏感。染料化学结构多样,可大致分为偶氮类、三苯甲烷类、杂环类、聚合类和蒽醌类等。白腐真菌对染料具有极其广谱的降解脱色作用,几乎涵盖了所有染料^[36]771,772。常见染料的结构见图 12。

LEVIN 等^[37]研究了 26 株不同的白腐真菌对不同染料的脱色能力。将白腐真菌的菌丝体接种在含有麦芽提取物和葡萄糖的固体培养基上,接种前加入 6 种染料(孔雀石绿、天青 B、Poly R-478、蒽醌蓝、刚果红和二甲基苯胺)。在 26 株真菌中,有 10 株能够对所有的染料都有脱色作用,其中 *Coriolus versicolor* f. *antarcticus* 被认为是最有降解潜力的一株。*Coriolus versicolor* f. *antarcticus* 的 18 d 培养液在 1 h 内,对二甲基苯胺(24 mg/L)、Poly R-478(75 mg/L)、活性蓝 19(9 mg/L)、孔雀石绿(6 mg/L)、靛蓝胭脂红(23 mg/L)的降解率分别达到 28%、30%、43%、88%和 98%。在胞外液体中,仅检测到 Lac 的活性。

LEVIN 等^[38]研究了氨基酸、混合氮源和维生素对硬毛栓菌(*Trametes trogii*)、长绒毛栓菌(*Trametes villosa*)和 *Coriolus versicolor* var. *antarcticus* 产生木质素降解酶系的影响,并用它们的培养基滤液对不同染料进行脱色实验。结果表明,谷氨酸和蛋白胨是 Lac 和 MnP 产生的最佳氮源;维生素的加入有时能刺激木质素降解酶系的产生,而且在所有的实验中都没有抑制效果;硫胺素能够诱导 MnP 的产生。*Trametes trogii* 在谷氨酸培养基中生长时,Lac 和 MnP 达到最高活性,分别为 188.3、4.5 U/mL ,也得到了最好的脱色效果。在 pH 4.5、30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,能够分别将 13%(质量分数,下同)、23%、40%、46%、82%、94%和 95%的龙胆紫、二甲基苯胺、刚果红、孔雀石绿、活性蓝 19、靛蓝胭脂红和蒽醌蓝脱色。

能够被白腐真菌木质素降解系统生物降解的各类染料见表 1^[36]775。

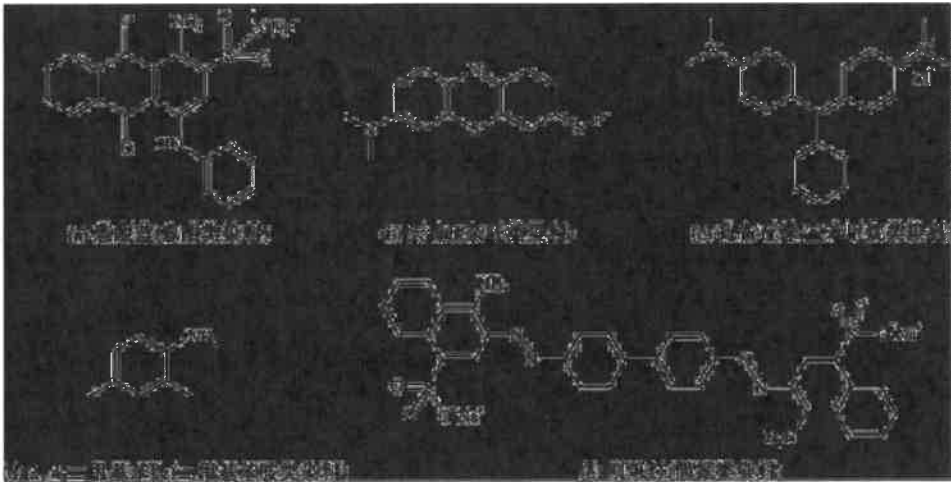


图 12 常见染料的结构
Fig. 12 The structures of different kinds of dyes

表 1 能够被白腐真菌木质素降解系统生物降解的各类染料
Table 1 Different kinds of dyes that can be degraded by the white rot fungus

白腐真菌菌株	染料	参与降解酶类
<i>Coriolus versicolor</i> f. antarcticus	孔雀石绿、天青 B、Poly R-478、苝醌蓝、刚果红、二甲苯胺	Lac
一色齿毛菌 (<i>Cerrena unicolor</i>) (Bull, ex Fr.) Murr. 137	酸性蓝 62、酸性蓝 40、活性蓝 81、直接黑 22、酸性红 27	Lac
标迷孔菌 (<i>Daedalea quercina</i>)	芝加哥天蓝、Poly B-411、雷马唑亮蓝、锥虫蓝、活性蓝 2	Lac
粗毛纤孔菌 (<i>Funalia trogii</i>)	活性黑	Lac
<i>Funalia trogii</i>	雷马唑亮蓝、Drimaren Blue CL-BR	Lac
<i>Irpex lacteus</i>	活性蓝 19、活性黑 5	MnP、Lac
<i>Irpex lacteus</i>	活性橙 16、雷马唑亮蓝	Lac
<i>Irpex lacteus</i> (固定化)	活性橙 16	MnP、Lac
香菇 (<i>Lentinula</i> (<i>Lentinus</i>) <i>edodes</i>)	活性蓝 19	MnP
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (固定于 $Zr(ClO_4)_2$ 活化的浮石)	直接蓝 15	MnP
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (固定于 Kissiris)	亚甲基蓝	MnP
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> BKM-F1767	直接蓝 15、直接绿 6、刚果红	MnP
糙皮侧耳 (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	酚红、邻甲酚红、间甲酚紫、溴酚红、溴酚蓝、溴酚紫、溴酚绿	MnP、LiP
凤尾菇 (<i>Pleurotus pulmonarius</i>)	酰胺黑、刚果红、锥虫蓝、甲基绿、活性蓝 19、甲基紫、乙基紫、灿烂甲酚蓝、亚甲基蓝、Poly R-478	Lac
<i>Trametes trogii</i>	孔雀石绿、二甲苯胺、丽春红 2R、苝醌蓝	MnP、Lac、GOx
<i>Trametes versicolor</i>	活性蓝 19	LiP
<i>Trametes versicolor</i> CNPR8107	雷马唑亮蓝 RR、雷马唑红 RR、雷马唑黄 RR	MnP、Lac

2.11 有机硫化物

早在 1988 年, SCHREINER 等³⁹就发现 *Phanerochaete chrysosporium* 能够将噻吩氧化为噻吩亚砷。相对于含硫杂环化合物, 烃链中的硫基更能引起人们的兴趣, 因为这些基团在分子量沥青烯组分中起到了连接的作用, 对这些硫化物的生物降解在重油的粘度降低中具有潜在的价值。HAMME 等⁴⁰研究了不同白腐真菌对二苄硫醚的代谢作用, 结果表明, 5 种白腐真菌 (*Trametes trogii* UAMH 8156、粗毛栓菌 (*Trametes hirsuta*) UAMH8165、*Phanerochaete chrysosporium* ATCC 24725、*Trametes versicolor* IFO 30340 和瘤盖干酪菌 (*Tyromyces palustris*)) 都能将二苄硫醚氧化为

二苄基亚砷, 然后进一步氧化为二苄基砷。细胞色素氧化酶(P-450)抑制剂的存在能够消除二甲基亚砷的氧化。在栓菌的培养基中检测到了 Lac 的活性, 浓缩的上清液和纯化的 Lac 都能够催化二苄硫醚的氧化, 而且 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS) 的存在能够促进氧化作用。这些数据表明, 氧化反应的第 1 步是由白腐真菌胞外的氧化酶系催化的, 而第 2 步是由 P-450 催化的。二苄硫醚结构见图 13。



图 13 二苄硫醚的结构
Fig. 13 The structure of Benzyl sulfide

3 结语与展望

白腐真菌胞外非底物特异性的酶系赋予了它广泛的生物降解性。由于生理学上的差异,如遗传表型的差异以及在不同物质刺激下产生胞外木质素降解酶的不同,白腐真菌对不同工业污染物的降解能力也不同。通过添加一些白腐真菌自身产生的小分子量调节剂,木质素降解酶系的活性可以得到提高^{[36]778}。也可以通过补充适当的营养成分和优化降解工艺来增强白腐真菌的生物降解能力。今后的研究热点将集中在通过基因工程改造而获得高活性和热稳定的木质素降解酶系^[41,42]以及酶的固定化^[43],以达到在工业中直接应用的目的。通过对木质素降解酶系的基因水平研究,以增加酶的表达量和提高酶的活性或者发现更多的高活性降解酶,这对白腐真菌及其降解酶系在有机物降解中的应用将会产生巨大的推动作用。

由于白腐真菌属真核微生物,生长周期长,限制了其应用范围。随着生物科技不断发展,采用合成生物学中构建小基因组微生物技术对白腐真菌的基因组进行精简^[44],可提高其生长速率。另外,体外构建白腐真菌木质素降解酶学模块,然后在原核的最小基因组微生物(基盘)中进行组装,能使白腐真菌发挥更为重要的作用。

参考文献:

- [1] POINTING S B. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi[J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2001, 57(1/2): 20-33.
- [2] 董亮,谢冰,黄民生,等. 白腐真菌酶学与分子生物学研究进展[J]. 环境科学与技术, 2005, 28(5): 102-104.
- [3] KAY SHOEMAKE J L, WATWOOD M E. Limitations of the lignin peroxidase system of the white-rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1996, 46(4).
- [4] ALAM M Z, MANSOR M F, JALAL K C. Optimization of lignin peroxidase production and stability by *Phanerochaete chrysosporium* using sewage-treatment-plant sludge as substrate in a stirred-tank bioreactor [J]. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2009, 36(5).
- [5] MARTINEZ D, LARRONDO L F, PUTNAM N, et al. Genome sequence of the lignocellulose degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* strain RP78 [J]. Nature Biotechnol., 2004, 22(6): 695-700.
- [6] LUNDELL T K, MÄKELÄ M R, HILDÉN K. Lignin-modifying enzymes in filamentous basidiomycetes ecological, functional and phylogenetic review[J]. Journal of Basic Microbiology, 2010, 50(1): 5-20.
- [7] KIRK T K, FARRELL R L. Enzymatic combustion; the microbial-degradation of lignin[J]. Annu. Rev. Microbiol., 1987, 41(1): 465-505.
- [8] KERSTEN P, CULLEN D. Extracellular oxidative systems of the lignin-degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Fungal Genetics and Biology, 2007, 44(2).
- [9] 吴晴. 白腐真菌及其漆酶的应用研究[J]. 安徽科技, 2010(3): 47-48.
- [10] 吕世翔, 王秋玉. 白腐菌在木质纤维素降解中的应用进展[J]. 森林工程, 2009, 25(4): 26-31.
- [11] 李慧蓉. 白腐真菌生物学和生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 25-26.
- [12] CULLEN D, KERSTEN P J. Enzymology and molecular biology of lignin degradation [M]//BRAMBL R, MARZULF G A. The mycota: biochemistry and molecular biology. Berlin: Springer-Verlag, 2004: 249-273.
- [13] SUNDARAMOORTHY M, YOUNG H L, GOLD M H, et al. High resolution crystal structure of manganese peroxidase: substrate and inhibitor complexes[J]. Biochemistry, 2005, 44(17): 6463-6470.
- [14] KAMEI I, DAIKOKU C, TSUTSUMI Y, et al. Saline-dependent regulation of manganese peroxidase genes in the hypersaline-tolerant white rot fungus *Phlebia* sp. Strain MG-60 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(9): 2709-2716.
- [15] BALDRIAN P. Fungal laccases-occurrence and properties[J]. FEMS Microbiol. Rev., 2006, 30(2): 215-242.
- [16] QUARATINO D, FEDERICI F, PETRUCCIOLI M, et al. Production, purification and partial characterization of a novel laccase from the white-rot fungus *Panus tigrinus* CBS577. 79 [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2007, 91(1): 57-69.
- [17] EGGERT C, TEMP U, ERIKSSON K E L. Laccase-producing white-rot fungus lacking lignin peroxidase and manganese peroxidase[J]. ACS Symp. Ser., 1996, 655(10): 130-150.
- [18] SINGH D, CHEN S. The white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*; conditions for the production of lignin-degrading enzymes [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2008, 81(3): 399-417.
- [19] ARANDA E, ERNEST M U, CAMINAL G, et al. Advanced oxidation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers (BTEX) by *Trametes versicolor* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 181(1/2/3): 181-186.
- [20] YADAV J S, WALLACE R E, REDDY C A. Mineralization of mono- and dichlorobenzenes and simultaneous degradation of chloro- and methyl-substituted benzenes by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(2): 677-680.
- [21] KENNEDY D W, AUST S D, BUMPUS J A. Comparative biodegradation of alkyl halide insecticides by the white rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium* (BKM-F-1767) [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990, 56(8): 2347-2353.
- [22] IVÁN N P, MARIA A, LETICIA Y, et al. DDE-induced apoptosis in children exposed to the DDT metabolite [J]. Science of the Total Environment, 2006, 370(2): 343-351.
- [23] ZHAO Yuechun, YI Xiaoyun. Effects of soil oxygen condi-

- tions and soil pH on remediation of DDT-contaminated soil by laccase from white rot fungi[J]. Int. J. Environ. Res. Public. Health, 2010, 7(4): 1612-1621.
- [24] YADAV J S, REDDY C A. Mineralization of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and mixtures of 2,4-D and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid by *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(9): 2904-2908.
- [25] BENDING G D, FRILLOUX M, WALKER A. Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential[J]. FEMS Microbiol. Lett., 2002, 212(1): 59-63.
- [26] GAITAN I J, MEDINA S C, GONZÁLEZ J C, et al. Evaluation of toxicity and degradation of a chlorophenol mixture by the laccase produced by *Trametes pubescens* [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3): 3632-3635.
- [27] ZENG Jun, LIN Xiangui, ZHANG Jing, et al. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the bacterial laccase CueO from *E. coli* [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2011, 89(6): 1841-1849.
- [28] ACEVEDO F, PIZZUL L, CASTILLO M P, et al. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the Chilean white-rot fungus *Anthracoophyllum discolor* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 185(1): 212-219.
- [29] HONGSAWAT P, VANGNAI A S. Biodegradation pathways of chloroanilines by *Acinetobacter baylyi* strain GFJ2 [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186(2/3): 1300-1307.
- [30] SANDERMANN J R, HELLER W, HERTKORN N, et al. A new intermediate in the mineralization of 3,4-dichloroaniline by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(9): 3305-3312.
- [31] KAMEI I, SONOKI S, HARAGUCHI K, et al. Fungal bio-conversion of toxic polychlorinated biphenyls by white-rot fungus, *Phlebia brevispora* [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2006, 73(4): 932-940.
- [32] FUJIIHRO S, HIGUCHI R, HISAMATSU S, et al. Metabolism of hydroxylated PCB congeners by cloned laccase isoforms [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2009, 82(5): 853-860.
- [33] THOMAS D R, CARSWELL K S, GEORGIU G. Mineralization of biphenyl and PCBs by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Biotechnol. Bioeng., 1992, 40(11): 1395-1402.
- [34] KIM H Y, SONG H G. Transformation of 2,4,6-trinitrotoluene by white rot fungus *irpex lacteus* [J]. Biotechnology Letters, 2000, 22(12): 969-975.
- [35] KIM H Y, SONG H G. Comparison of 2,4,6-trinitrotoluene degradation by seven strains of white rot fungi [J]. Current Microbiology, 2000, 41(5): 317-320.
- [36] ASGHER M, BHATTI H N, ASHRAF M, et al. Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzymes system [J]. Biodegradation, 2008, 19(6): 19(6).
- [37] LEVIN L, PAPINUTTI L, FORCHIASSIN F. Evaluation of Argentinean white rot fungi for their ability to produce lignin-modifying enzymes and decolorize industrial dyes [J]. Bioresource Technology, 2004, 94(2): 169-176.
- [38] LEVIN L, MELIGNANI E, RAMOS A M. Effect of nitrogen sources and vitamins on ligninolytic enzyme production by some white-rot fungi. Dye decolorization by selected culture filtrates [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(12): 4554-4563.
- [39] SCHREINER R P, STEVENS J R, TIEN M. Oxidation of thi-anthrene by the ligninase of *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(7): 1858-1860.
- [40] HAMME J D, WONG E T, DETTMAN H, et al. Dibenzyl sulfide metabolism by white rot fungi [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(2): 1320-1324.
- [41] RABERG U, HAFREN J. Gravimetric screening method for fungal decay of paper; inoculation with *Trametes versicolor* [J]. Biotechnology Letters, 2009, 31(10): 1519-1524.
- [42] WU Y R, LUO Z H, CHOW R K, et al. Purification and characterization of an extracellular laccase from the anthracene-degrading fungus *Fusarium solani* MAS2 [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(24): 9772-9777.
- [43] PLAGEMANN R, JONAS L, KRAGL U. Ceramic honeycomb as support for covalent immobilization of laccase from *Trametes versicolor* and transformation of nuclear fast red [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2011, 90(1): 313-320.
- [44] 张柳燕, 常素华, 王晶. 从首个合成细胞看合成生物学的现状与发展 [J]. 科学通报, 2010, 55(36): 3477-3488.

编辑: 贺锋萍 (修改稿收到日期: 2011-06-20)

(上接第 63 页)

- [18] 李玲玲, 郑西来, 褚衍洋. 高盐度废水的生物除磷特性研究 [J]. 中国给水排水, 2009, 25(17): 73-75.
- [19] 杨建, 王士芬, 郭长虹. 驯化活性污泥处理高含盐量有机废水 [J]. 上海环境科学, 1998, 17(9): 8-10.
- [20] 赵凯峰, 王淑莹, 叶柳, 等. NaCl 盐度对耐盐活性污泥沉降性能及脱氮的影响 [J]. 环境工程学报, 2010, 4(3): 570-574.
- [21] UYGUR A, KARGI F. Salt inhibition on biological nutrient removal from saline wastewater in a sequencing batch reactor [J]. Enzyme Microb. Technol., 2004, 34(3/4): 313-318.
- [22] PANSWAD T, ANAN C. Specific oxygen, ammonia and nitrate uptake rates of a biological nutrient removal process treating elevated salinity wastewater [J]. Bioresour. Technol., 1999, 70(3): 237-243.
- [23] DAHL C, SUND C, KRISTENSEN G H, et al. Combined biological nitrification and denitrification of high-salinity wastewater [J]. Water Sci. Technol., 1997, 36(2/3): 345-352.
- [24] REID E, LIU Xingrong, JUDD S J. Effect of high salinity on activated sludge characteristics and membrane permeability in an immersed membrane bioreactor [J]. Journal of Membrane Science, 2006, 283(1/2): 164-171.
- [25] 谢康. 膜生物反应器处理含盐污水的性能及微生物种群结构研究 [M]. 上海: 同济大学出版社, 2011: 41-110.

编辑: 卜岩枫 (修改稿收到日期: 2011-09-25)